

蛍光性拮抗細菌によるハクサイ軟腐病の生物防除に関する研究

富 樫 二 郎・上 原 大 典・生 井 恒 雄

山形大学農学部生物生産学科生産生態制御学講座

(平成11年10月1日受理)

Biological Control of the Soft Rot of Chinese cabbages by Fluorescent Antagonistic Bacterium

Jiro TOGASHI, Daisuke UEHARA and Tsuneo NAMAI

Section of Agricultural Ecology and Engineering,

Department of Bioproduction, Faculty of Agriculture,

Yamagata University, Tsuruoka, 997-8555 Japan

(Received October 1, 1999)

Summary

The present study was carried out to confirm whether or not that the soft rot of Chinese cabbages (*Brassica campestris*, *pekinensis* group) was biologically controlled by fluorescent bacterium antagonistic to the pathogenic bacterium. First, the fluorescent bacterium was tried to isolate from rhizospheres of vegetables, weeds and wild grasses by the dilution plating method with King's B medium around Tsuruoka, Yamagata Pref. during May to Nov. in 1997. One hundred and fifty six fluorescent bacterial strains were isolated from 28 species of the plants tested. Antagonistic activity of the isolates to the soft rot bacterium was assayed by using 5 strains of the organism (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) as indicator. Out of the isolates, 46 isolates were antagonistic on PDA and 74 isolates on King's B medium, respectively. In the present experiments, 4 strains showing wide antagonistic spectrum were used; No. 75 and No. 214 from Chinese cabbage, No. 206 from Kayatsurigusa (*Cyperus microira*) and No. 211 from Oarechinokiku (*Erigeron sumatrensis* and). After the organisms were grown in broth by shaking at 25 C for 24 hrs, they were centrifuged (8000×g, 10 min.) and the bacterial cells were resuspended in sterilized water (10⁸ cfu/ml). In order to examine the efficacy of the organisms to control of the disease, the following treatments were conducted; (A) bacterization of seeds by dipping in the suspensions, (B) bacterization of rhizoplanes of seedlings which were seeded in sterilized soil and were transplanted after dipping of rhizoplanes in the suspensions and (C) spraying of the suspensions to leaf surfaces several times. Chinese cabbages (cv. Matsushima-kohai W1116) were seeded on April 30 (Spring seeding) and Aug. 6 (Summer seeding) at our University Farm. Consequently, controlling efficacy was obtained though the degree of the efficacy varied according to the antagonistic bacterial strains, treatment method, growing stages and seasons of Chinese cabbages.

Key words: Chinese cabbages, soft rot, antagonistic bacteria, biological control

I 緒 言

農薬は作物の病害防除に大きな役割を担って来た。しかし、長期にわたる農薬への偏重は食品の安全性、土壌や地下水などの環境への悪影響が種々指摘され、また、

薬剤耐性菌の出現による防除効果の低下を引き起こした^{16, 18)}。これらの事実から農薬への依存性を可能な限り軽減し、生態系との調和を重視した環境保全型農業の確立に向けた新しい防除技術の開発、確立が要請されている^{16, 21)}。

このような病害防除の一つに病原菌の拮抗微生物を利用した生物防除法がある^{21, 27)}。たとえば、果樹類やバラ

キーワード：ハクサイ、軟腐病、生物防除、拮抗菌

などの根頭ががんしゅ病に*A. radiobacter* strain 84^{10, 15)}, トウモロコシ苗立枯病に*B. subtilis*³⁾, ダイコン萎黄病, ラッカセイ, インゲン, ワタの苗立枯病に*Ps. fluorescens*^{7, 8)}が利用されている。

今日, 難防除病害とされているハクサイ軟腐病^{17, 24, 25)}でも拮抗微生物を利用した生物防除法の効果が期待されている。このような観点から本研究では軟腐病菌の拮抗細菌を植物の根圏土壌から分離し, ハクサイ軟腐病に対する防除効果を検討したので報告する。

II 蛍光性細菌の分離と軟腐病菌に対する拮抗性

拮抗微生物を用いた生物防除ではまず抗菌活性が高く増殖性, 定着性のすぐれた拮抗微生物を分離する必要がある^{14, 21)}。ある病原菌の拮抗菌はその病原菌が生存, 増殖している部位に生存していることが多い。ハクサイ軟腐病菌 (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) はハクサイ (*Brassica campestris* L. *pekinensis* group)

などの野菜の他に雑草根圏でも生存している¹¹⁾。そこで本項では各種の野菜, 雑草および野草の根圏から拮抗性細菌を分離し, それらの軟腐病菌に対する拮抗性を検討した。

材料及び方法

1997年5月から11月まで山形県鶴岡市およびその周辺を中心に作物, 雑草および野草をランダムに選び, 根圏土壌を採取した。それらの10gを90mlの滅菌水に加えて適宜希釈し, 希釈液をKing's B培地で平板培養した。25℃, 48時間培養後UV (365nm) 照射下で蛍光を発する集落を選び, 単集落培養を2~3回繰り返した後, NBY培地に移植し, 保存した。次にPDAおよびKing's B培地を各々径9cmのペトリ皿に流し込み固化後, その平板上に分離菌株を3~4菌株植付け, 25℃, 48時間培養した。山形大学農学部植物病理学研究室保存の軟腐病菌*E. carotovora* subsp. *carotovora* 5系統を各々ブイオンで25℃, 24時間振とう培養後遠心集菌 (8000×g,

第1表 植物根圏からの軟腐病菌に対する蛍光性拮抗細菌の分離

分離源植物	分離個体数	分離菌株数	阻止帯形成菌株数	
			PDA ¹⁾	King's B ²⁾
アブラナ (<i>Brassica campestris</i> L. subsp. <i>napus</i>)	1	2	0	1
イネ (<i>Oryza sativa</i> L.)	1	1	0	1
エンドウ (<i>Pisum sativum</i> L. var. <i>anense</i>)	3	3	1	3
キク (<i>Chrysanthemum morifolium</i> var. <i>anense</i>)	1	2	0	1
キャベツ (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i>)	6	8	2	6
シソ (<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i>)	3	6	1	0
ジャガイモ (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	3	5	0	2
ダイコン (<i>Raphanus sativus</i> L. <i>acanthiformis</i>)	1	2	1	1
ハクサイ (<i>Brassica campestris</i> L. var. <i>pekinensis</i> group)	43	66	25	33
アカザ (<i>Chenopodium album</i> L. var. <i>centrorubrum</i>)	1	1	0	0
オオアレチノギク (<i>Erigeron sumatrensis</i>)	3	3	0	1
オオバコ (<i>Plantago asiatica</i> L.)	2	5	0	2
カヤツリグサ (<i>Cyperus microiria</i>)	5	10	2	6
クサヨシ (<i>Phalaris arundinacea</i> L.)	2	2	1	0
クログアイ (<i>Eleocharis kuroguwai</i>)	1	1	1	0
ケイヌビエ (<i>Panicum crus-galli</i> L. var. <i>echinata</i>)	1	1	0	1
ショウブ (<i>Acorus Calamus</i> L. var. <i>asiaticus</i>)	1	1	0	1
スズメノテッポウ (<i>Alopecurus aequalis</i> Sobol. var. <i>amurensis</i>)	3	7	3	1
スベリヒユ (<i>Portulaca oleracea</i> L.)	2	2	0	2
ツユクサ (<i>Commelina communis</i> L.)	4	4	2	2
ナズナ (<i>Capsella Bursa-pastoris</i>)	1	1	0	0
ヒメジョオン (<i>Erigeron annuus</i> L.)	2	4	2	3
ヒメヨモギ (<i>Artemisia lavandulaefolia</i>)	1	1	0	1
ヘラオモダカ (<i>Alisma canaliculatum</i>)	1	3	0	1
メヒシバ (<i>Digitaria adscendens</i>)	5	8	3	4
ミゾソバ (<i>Polygonum thunbergii</i>)	1	1	1	0
ヨモギ (<i>Artemisia vulgaris</i> L. var. <i>indica</i>)	2	4	0	0
ヤナギタデ (<i>Polygonum hydropiper</i> L.)	2	2	1	1
計	102	156	46	74

1), 2) 検定培地

10分間)した。その後沈殿部を 10^8 cfu/mlの菌数になるように殺菌水に懸濁し、分離菌株が集落を形成している平板上に噴霧した。25℃、24~48時間培養後、集落周辺の指示菌に対する生育阻止帯の有無でその拮抗性、またその巾(mm)で拮抗性の強さを判定した。

結果と小括

第1表に示したように供試植物はハクサイなどの作物や雑草のカヤツリグサなど28種である。蛍光性細菌はこれらすべての植物から分離され156菌株に達した。これらの中で軟腐病菌に拮抗性を示したのはPDAで46菌株、King's B培地で74菌株あった。アカザ、ナズナ、ヨモギからの菌株はいずれの培地上でも拮抗性を示さなかったが、カヤツリグサ、スベリヒユ、ヒメジョオン等の作物以外の植物根圏にも軟腐病菌の拮抗菌が生存していることが示された。

また、分離した拮抗菌の抗菌スペクトルを調べるために5系統の指示菌に対する各拮抗菌の割合をまとめ第2表に示した。供試156菌株のうち5系統の指示菌に拮抗性を示したものはPDAで5菌株、King's B培地で24菌株であった。同様に4系統に拮抗性を示したものは各々5, 11菌株、3系統には13, 6菌株、1系統にのみ拮抗性を示したものは15, 17菌株であった。しかしながら、両培地上で拮抗性を示さなかったものが各々107, 83菌株でそれぞれ68%, 53.2%に達した。

このように抗菌スペクトルは分離菌株によって異なるが、供試菌株はいずれもグラム陰性で運動性を有する桿菌であり、細菌学的諸性質等から*Pseudomonas* 属の細菌^{4, 6, 16)}と推察された。

Ⅲ. 蛍光性拮抗細菌によるハクサイ軟腐病菌の防除

前項で分離した蛍光性拮抗細菌を用いてハクサイ軟腐病の防除試験を行った。また、夏播ではGlandorfらの方法⁵⁾で選抜した蛍光性拮抗細菌のリファンピシン耐性

菌を用い、根圏土壌および葉面での生存、増殖を併せて検討した。

材料および方法

供試菌株 前項の分離菌株の中から比較的強い拮抗活性を示した次の4菌株を供試した。すなわち、No. 75 (ハクサイから1997年7月14日分離、以下記載方法は同じ)、No. 206 (カヤツリグサ、1997年9月15日)、No. 211 (オオアレチノギク、1997年9月15日)、No. 214 (ハクサイ、1997年10月6日)である。No. 75はPDAおよびKing's B培地の両方で5系統の指示菌に拮抗性を示した。

拮抗細菌の処理方法

供試の4菌株を各々ブイヨンで前項と同様の方法で培養し、その殺菌水懸濁液(10^8 cfu/ml)を作成して次のような処理を行なった。

A) 種子バクテリゼーション区: 70%アルコールで表面殺菌したハクサイの種子(根こぶ抵抗性の松島交配W1116号)を拮抗菌の懸濁液に25℃、24時間浸漬後播種した。

B) 根面バクテリゼーション区: 山形大学農学部附属農場のハクサイ連作圃場から採取した土壌を高圧滅菌(120℃、2時間)した。この殺菌土壌300gに拮抗菌の懸濁液50mlを添加し、25℃で7日間培養した。その後、ペーパーポットに充填し、前記と同様にバクテリゼーションした種子を播種した。播種後ガラス室で10日間育苗し、圃場に移植した。なおペーパーポットの殺菌土壌への灌水には殺菌水を用いた。

C) 葉面散布区: 拮抗菌の懸濁液を播種後15日、30日、45日、60日、および75日にハクサイ葉面に株当たり50~100ml散布した。

D) 対照区: 無処理のハクサイ。

圃場とハクサイの栽培法

山形大学農学部附属農場内のハクサイ連作圃場にハク

第2表 分離菌株の抗菌スペクトル

供試培地	供試菌株	分離菌株により生育阻止された指示菌の系統数					
		5	4	3	2	1	0
PDA	156	5 ^{a)} (3.2) ^{c)}	5 (3.2)	13 (8.3)	11 (7.1)	15 (9.6)	107 ^{b)} (68.6)
King's B	156	24 (15.4)	11 (7.1)	6 (3.8)	15 (9.6)	17 (10.9)	83 (53.2)

a) 指示菌5系統に対して阻止帯を形成した菌株数

b) すべての指示菌に対して阻止帯を形成しなかった菌株数

c) %

サイ（松島交配W1116号）を1998年4月30日（春播）と8月6日（夏播）に接種した。肥培管理等は前報²¹⁾の通り行い、殺虫剤オルトラン粒剤を適宜散布したが、その他の農薬は使用しなかった。

軟腐病の発病調査

春播では6月26日、夏播では8月26日から処理区あたり10個体、2連制とし計20個体について清水ら²⁰⁾の方法により軟腐病の発病調査を行なった。

拮抗細菌のハクサイ根圏および葉面での生存

夏播ハクサイでリファンピシン耐性の拮抗細菌で種子および根面をバクテリゼーションした株を選び、その根圏土壌中の拮抗細菌をリファンピシン含有（100ppm）P-1培地⁹⁾を用いた希釈平板法で調査した。また、同じリファンピシン耐性の拮抗細菌を播種後62日目の1998年10

月7日にハクサイに散布し、0、8、および14日後にその葉面を径1.1cm²のコルクボーラーでランダムに3カ所打ち抜き、希釈平板法で拮抗細菌数を調べ、円盤1枚あたりの菌数として表示した。なお、拮抗細菌1系統あたり3個体のハクサイを供試した。

結果と小括

(1) 拮抗細菌処理とハクサイ軟腐病の発病指数

春播ハクサイ

ハクサイの生育は良好で株当たり生体重は2.5～3.0kgに達した。軟腐病は7月に入って発生したが概して軽症であった。種子バクテリゼーション区の場合、No. 75では7月12日、No. 206では7月6日および12日、No. 214では7月6日にそれぞれ防除効果がみられた。根面バクテリゼーション区ではNo. 75で7月12日、No. 206で7月

第3表 拮抗細菌処理によるハクサイ軟腐病の発病指数（春播）

菌 株	処 理*	調 査 日			
		6/30	7/6	7/12	7/18
No. 75	A	1.5	19.0	49.0 ^{b**}	73.0 ^b
	B	1.5	17.0	45.0 ^b	75.0 ^b
	C	1.0	23.5	61.5 ^a	85.5 ^a
	D	1.0	23.5	60.5 ^a	76.5 ^{a b}
No. 206	A	1.5	9.0 ^b	49.0 ^b	70.0
	B	1.5	8.0 ^b	47.0 ^b	72.0
	C	1.0	22.5 ^a	58.0 ^{a b}	77.5
	D	1.0	23.5 ^a	60.5 ^a	76.5
No. 211	A	1.0	22.5	63.0	78.5
	B	1.0	20.0	62.0	77.0
	C	1.0	30.5	62.5	80.5
	D	1.0	23.5	60.5	76.5
No. 214	A	0.5	16.0 ^b	59.5	85.0
	B	0.5	16.5 ^b	60.0	85.0
	C	0.5	14.5 ^b	53.0	77.5
	D	1.0	23.5 ^a	60.5	76.5

* A. 種子バクテリゼーション区

B. 根面バクテリゼーション区

C. 葉面散布区

D. 対照区

** 異符号間に5%水準で有意差あり。

6日と7月12日, No. 214で7月6日にそれぞれ効果がみられたが, No. 211では種子バクテリアゾーン区と同様みられなかった。また, 葉面散布区ではNo. 214で7月6日のみに防除効果がみられた(第3表)。

夏播ハクサイ

軟腐病は9月下旬から軟腐病が発生した。種子バクテリアゾーン区の場合, 長雨によりハクサイの発芽が不揃いで調査に必要な株数を得ることができなかった。根面バクテリアゾーン区ではNo. 211で9月26日および10月4日に効果がみられた。また, 葉面散布区の場合

No. 206で9月26日～10月10日, No. 211で9月26日, 10月4日, No. 214では9月26日にそれぞれ効果がみられた。これに対してNo. 75ではいずれの方法でも防除効果はみられなかった(第4表)。

(2) ハクサイ根圏土壌および葉面での拮抗細菌の生存

種子および根面を拮抗細菌でバクテリアゼーションした場合, 生育初期には根の発達が不十分なために根圏土壌を採取することは困難である。このため生育が進んだ播種後25日の8月31日に調査したところNo. 75, 211, および214の3菌株は 10^3 cfu/g(以下同じ)のレベルであっ

第4表 拮抗細菌処理によるハクサイ軟腐病の発病指数(夏播)

菌 株	処 理 [*]	調 査 日				
		9/20	9/26	10/4	10/10	10/16
No. 75	A	— ^{***}	—	—	—	—
	B	0	13.7	47.9	51.6	50.0
	C	0	14.2	45.3	50.0	45.0
	D	0	22.6	51.6	51.6	54.7
No. 206	A	—	—	—	—	—
	B	0	18.4 ^{a b***}	48.4 ^a	52.6 ^a	55.8
	C	0	9.5 ^b	37.4 ^b	43.7 ^b	47.9
	D	0	22.6 ^a	51.6 ^a	51.6 ^a	54.7
No. 211	A	—	—	—	—	—
	B	0	8.9 ^b	41.6 ^b	50.0	50.0
	C	0	10.0 ^b	37.4 ^b	49.5	51.6
	D	0	22.6 ^a	51.6 ^a	51.6	54.7
No. 214	A	—	—	—	—	—
	B	0	15.3 ^{a b}	49.5	52.6	52.6
	C	0	9.5 ^b	45.8	50.0	50.0
	D	0	22.6 ^a	51.6	51.6	54.7

^{*} ^{**} 第3表と同じである。

^{***} 欠株が多く調査不能を示す。

第5表 ハクサイ葉面に噴霧した拮抗細菌の生存

菌 株	10/7 (0) ^{a)}	10/15 (8)	10/21 (14)
No. 75	5.6×10^4 ^{b)}	0.8×10^1	$< 10^1$
No. 206	2.7×10^4	2.8×10^1	$< 10^1$
No. 211	2.3×10^4	4.0×10^1	3.3×10^1
No. 214	1.1×10^5	1.1×10^2	$< 10^1$

^{a)} 調査日（噴霧後の日数）^{b)} cfu/cm²

たが、No. 206は 10^4 のレベルを保持していた。その後、多少の変動はあるものの調査した10月15日まではほぼ同じレベルが保持された。また、葉面では散布直後には4菌株ともに 10^4 cfu/cm²（以下同じ）であったが、その後次第に減少し、8日後には $10^1 \sim 10^2$ のレベルとなった。14日後にはNo. 211が 10^1 のレベルで検出されたが、このほかの菌株は検出されなかった（第5表）。

Ⅳ 考 察

ハクサイ軟腐病菌はハクサイ根圏で増殖した病原菌が第一次伝染源の役割を持つ^{23, 24)}。また、本病は地上部の茎葉からも発生し、茎葉に生息している病原菌も感染源となる¹³⁾。このため、本病の防除では根圏や葉面での病原菌の増殖や生存を発病最小以下のレベルに抑制することが重要な手段となる。最近、拮抗微生物を用いた作物病害防除技術の開発と確立が要請されており¹⁶⁾、本研究ではハクサイ軟腐病についてその可能性を検討した。拮抗微生物による防除法では拮抗活性が高く、そのスペクトルが広い拮抗菌が有効である場合が多い²¹⁾。そこでまずpyrrolinitrinなどの抗生物質やpseudobactinなどのシデロフォアを産生し、ジャガイモ根圏における黒脚病菌*E. carotovora* subsp. *atroseptica*の増殖抑制²⁶⁾やトマト青枯病¹⁾など多くの細菌病で防除効果が認められている蛍光性拮抗細菌の分離を試みた。拮抗細菌はその病原菌が生息している部位に生息していることが多いといわれ、これまで軟腐病菌はアカザ、ツユクサ、ノゲシ、スベリヒユなどの根圏に生存していることが報告されている¹¹⁾。本実験でも軟腐病菌が生息、増殖しているハクサイなどの野菜のほかには各種の雑草や野草の根圏から蛍光性細菌が分離された。微生物の拮抗性は捕食、寄生（溶菌）、バクテリオシン、抗生物質、栄養の競合^{16, 18, 21)}等によるが、今回の蛍光性細菌はPDAやKing's B培地

で軟腐病菌に拮抗性であることから抗生物質とシデロフォア産生が関与しているものと推察される。ハクサイ軟腐病のような土壌病害の生物防除では種子や根面を拮抗菌で処理するバクテリゼーションの方法²⁾が広く用いられている。今回、これらの方法と葉面散布の方法により4系統の拮抗菌を用いて防除効果を検討したところ、バクテリゼーション処理した種子からの株の根圏で供試の拮抗菌が $10^2 \sim 10^5$ cfu/gのレベルで生存していること、葉面に散布した場合には比較的短期間で減少すること、軟腐病の防除効果は認められるものの菌株処理方法、ハクサイの栽培時期等によりその効果は異なり、概して生育中期に効果がみられることが示された。また、No. 75のように拮抗活性の高い系統が必ずしも高い防除効果を示すとは限らないことが明らかとなった。

拮抗微生物による生物防除の効果は種々の要因によって左右されるが、本実験でハクサイ軟腐病も拮抗菌を用いて防除できる可能性が示された。今後、その効果を高め、確実なものにするためこの種の実験を年次、場所などを変え種々の条件下で継続し、結果を集積していく必要がある。生物防除の効果を支配する因子の一つは抗菌スペクトルが広く、根圏や葉面などの与えられた環境での定着性や増殖性がすぐれた拮抗菌を使用することである^{14, 21)}。これまで拮抗菌の分離源は主に土壌や植物根圏などの自然素材に求めてきた。しかし、今後は土壌や水中で広範囲のグラム陰性細菌に寄生して増殖する*Bdellovibrio bacteriovorus*やプロトゾア²⁷⁾、微生物の細胞壁を溶解するほふく細菌²¹⁾などの利用についての検討も必要と考えられる。また、UV照射や化学変異原処理による有効な拮抗菌の選抜や形質導入、形質転換、組換えDNA技術²⁷⁾等により、有効で安全な拮抗菌の作出なども試みる必要があると思われる。

最近、ハクサイ軟腐病の病斑形成が非病原性のバクテ

リオシン産生菌株によって阻害される²²⁾ことから、この菌株が防除剤として実用化されている¹²⁾。今後拮抗菌と非病原性バクテリオシン産生菌を混合して使用方法等によりさらに高い防除効果が期待される。

V 摘 要

蛍光性拮抗細菌によるハクサイ軟腐病の生物防除について検討した。1997年5月11日まで鶴岡市周辺でハクサイなどの作物、雑草、野草の根圏から蛍光性細菌の分離を試みたところ28種の植物から156菌株が分離された。指示菌として5系統の軟腐病細菌*E. carotovora* subsp. *carotovora*を供試し分離菌株の拮抗性を検討した結果、PDA上では46菌株、King's B培地では74菌株が拮抗性を示した。これらの蛍光性細菌の中から抗菌スペクトルが比較的広い4菌株(No. 75, 206, 211, 214)を用い、1998年山形大学農学部附属農場でハクサイの種子、根面のバクテリゼーションおよび葉面散布を行い、ハクサイ軟腐病に対する防除効果を調査した。拮抗菌の菌株、その施用法、ハクサイの栽培時期などで防除効果は異なるもののこれらの拮抗細菌を用いてハクサイ軟腐病を生物的に防除できる可能性が示唆された。

引 用 文 献

1. 相野公孝・土屋健一・川本征臣・吉倉淳一郎 (1993). トマト青枯病に対する拮抗菌*Pseudomonas putida* PF-16株のトマト根への定着性. 土と微生物41: 25-29
2. Brown, M. E (1974). Seed and root bacterization. Annu. Rev. Phytopathol. 12: 181-189
3. Chang, I. P. and T. Kommendal. (1968). Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonistic microorganisms. Phytopathology. 58: 1395-1401
4. Cowan, S. T. (1974). Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2nd ed.. Cambridge Univ. Press.
5. Glandorf, D. C. M., P. A. H. M. Bakker and B. Schipper. (1983). Stability of rifampicin resistance as a marker for root colonization studies of *Pseudomonas putida* in the field. Plant and Soil. 147: 135-142.
6. 後藤正夫・瀧川雄一 (1984). 植物病原細菌同定のための細菌学的性質の調べ方 (1), (2), (3), (4). 植物防疫. 38(7): 41-46, 38(8): 41-45.
7. Howell, C. R et al (1979). Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. Phytopathology. 69: 480-482.
8. Howell, C. R et al (1980). Suppression of *Pythium ultimum* induced damping off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic pyoluteorin. Phytopathology. 70: 712-715
9. Kato, K and Kunio, I. (1983) New selective media for *Pseudomonas* strains producing fluorescent pigment. Soil Sci. Plant Nutr. 29: 525-532.
10. Kerr, A. (1980). Biological control of crown gall through production of agrocin 84. Plant Dis. 64: 25-30.
11. 菊本敏雄・坂本正幸 (1969). そ菜類軟腐病細菌の生態的研究(7). 作物および雑草根圏における軟腐病細菌の増殖. 日植病報. 35: 36-40
12. Kikumoto, T., Kyremeh, G. A., Chang, D. Y. and Gungi, Y. (1998). Biological control of Chinese Cabbage with avirulent mutant strains of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Pro. 4th Int. Workshop on PGPR. 118-119. Sapporo.
13. 小林研三 (1963). 白菜軟腐病に関する研究. 熊本農試彙報. 1: 1-76
14. 駒田 亘 (1989). 植物病害の生物的防除. 現状と将来展望. 植物防疫. 43: 11-15
15. 牧野孝宏・森田 儒 (1985). *Agrobacterium radiobacter* strain 84 によるバラ根頭がんしゅ病の生物防除. 静岡農試報. 30: 53-59.
16. 小川 奎 (1998). 微生物による病害の抑制. 農業環境を守る微生物利用技術. 西尾道徳・大畑貫一編. 農林水産技術情報協会. pp. 7-26. 東京.
17. 生 越 明 (1992). 土壌伝染病談話会レポート (土壌病害の発生, 防除試験, 研究の現状と30年間の推移). 第16回日本植物病理学会土壌伝染病談話会資料.
18. 大畑貫一 (1998). 先端技術による病害防除研究の現状と問題点. 植物防疫. 40: 1-3
19. Pallerani, N. J (1984). Family 1 *Pseudomonaceae*. Bergey's Manual of Systematic Bacterio-

- logy Vol. 1. 141. Williams and Wilkins, Co. Baltimore.
20. 清水 茂・金沢幸三・小林高博 (1958). はくさい白腐病抵抗性育種に関する研究. (第1報) 自然発病による耐病性の品種間差異. 農技研報. E. 6 : 75-108.
21. 鈴木孝仁 (1988). 微生物による病害防除の現状と問題点. 植物防疫. 42 : 223-226
22. 高原吉幸・岩淵哲哉・塩田正幸・木村俊夫・菊本敏雄 (1993) 非病原性 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* による軟腐病病菌の病斑形成の抑制. 日植病報. 59 : 581-586.
23. Togashi, J (1972). Studies on the outbreak of the soft rot disease of Chinese cabbage by *Erwinia aroideae* (Townsend.) Holl. Rep. Inst. Agr. Res. Tohoku. Univ. 23 : 17-52.
24. 津山博之 (1962). 白軟腐病病に関する研究. 東北大農研彙. 13 : 221-245.
25. 津山博之 (1979). 野菜類軟腐病の防除の困難性. 化学と生物. 17 : 190-194.
26. Xu, G-Wand D. C. Gross (1986). Selection of fluorescent *Pseudomonads* antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed piece decay. Phytopathology. 76 : 414-422.
27. 脇本 哲 (1973). 植物細菌病の生物防除の可能性. 農及園. 48 : 251-256.